

DIAGNÓSTICO PRECOZ DE CÁNCER DE PULMÓN EN MUESTRAS DE SUERO PREVIAS A SU DIAGNÓSTICO CLÍNICO: UTILIDAD DE LA METABOLÓMICA

A. Pereira-Vega¹, I. M. Díaz Olivares², L. Padrón Frayse¹, G. Peces-Barba Romero³, L. Seijo Maceiras⁴, Carolina Gotera³, J.L. López-Campos Bodineau⁵, J.L. Gómez-Ariza⁶, Belén Callejón Leblic⁶, Tamara García Barrera⁶ e investigadores de la cohorte CHAIN y de la cohorte DEPRECAP. (Estudio multicéntrico).

¹Servicio de Neumología del Hospital Juan Ramón Jiménez (Huelva)

²Fundación Andaluza Beturia de la Investigación en la Salud (FABIS)

³Fundación Jiménez Díaz (Madrid)

⁴Clínica Universidad de Navarra (Madrid)

⁵Hospital Virgen del Rocío (Sevilla)

⁶Departamento de Química Analítica de la Universidad de Huelva (UHU)

Artículo financiado con la Beca Neumosur nº 9/2015

RESUMEN

Introducción: Los nuevos biomarcadores (BM) basados en técnicas ómicas pueden ayudar al diagnóstico precoz del cáncer de pulmón (CP). Nuestro grupo ha propuesto 11 metabolitos como posibles BM de CP. Para la validación estos BM, son fundamentales y escasos, los estudios longitudinales.

Objetivo: analizar, en dos estudios longitudinales retrospectivos realizados en distintas cohortes, cómo varía el perfil metabolómico global (PMG) en los años previos al diagnóstico clínico del CP. Dichas cohortes realizan un seguimiento, de al menos 5 años, de los sujetos incluidos, con visitas clínicas anuales y extracción sanguínea.

Método y material: se han seleccionado 72 muestras de 38 sujetos que han desarrollado un CP en el seguimiento. Se comparan las muestras basales (momento del diagnóstico, n = 10), con muestras de 1 - 2 años (n = 25); 1 - 3 años (n = 38); y de 4 - 7 años previos al diagnóstico de CP (n = 7). Se utilizaron técnicas avanzadas de química analítica: espectrometría de masas y cromatografía líquida. Para la comparación entre grupos, se utilizó el Análisis Discriminante de Mínimos Cuadrados Parciales (PLS-DA).

Resultados: se encontraron diferencias significativas en las comparaciones de los PMG entre los diferentes grupos. Se determinaron los metabolitos causales de estas diferencias y las vías metabólicas implicadas, destacando el metabolismo de la glicina, serina y treonina. Se comparan con nuestros 11 posibles BM.

Conclusiones: en años previos al diagnóstico clínico del CP, se producen cambios metabolómicos. Existen metabolitos que se pueden detectar en los años previos a su diagnóstico clínico y que aportarán datos muy relevantes en el diagnóstico precoz del CP.

Palabras clave: Cáncer de Pulmón, ómicas, metabolómica, metabolitos, diagnóstico precoz, EPOC; biomarcadores, estudios longitudinales.

EARLY DIAGNOSIS OF LUNG CANCER IN SERUM SAMPLES PRIOR TO CLINICAL DIAGNOSIS: UTILITY OF METABOLOMICS.

ABSTRACT

Introduction: New biomarkers (BM) based on omics techniques can help in the early diagnosis of lung cancer (LC). Our group has proposed 11 metabolites as possible BMs of CP. To validate these BMs, longitudinal studies are fundamental and rare.

Objective: To analyze, in two retrospective longitudinal studies carried out in different cohorts, how the global metabolomic profile (GMP) varies in the years prior to the clinical diagnosis of PC. These cohorts follow up the included subjects for at least 5 years, with annual clinical visits and blood collection.

Method and material: 72 samples have been selected from 38 subjects who have developed CP during follow-up. Baseline samples (time of diagnosis, n = 10) are compared with samples from 1 - 2 years (n = 25); 1 - 3 years (n = 38); and 4 - 7 years prior to the diagnosis of CP (n = 7). Advanced analytical chemistry techniques were used: mass spectrometry and liquid chromatography. For comparison between groups, Partial Least Squares Discriminant Analysis (PLS-DA) was used.

Results: Significant differences were found in the comparisons of the PMG between the different groups. The causal metabolites of these differences and the metabolic pathways involved were determined, highlighting the metabolism of glycine, serine and threonine. They are compared with our 11 possible BMs.

Conclusions: In the years prior to the clinical diagnosis of CP, metabolomic changes occur. There are metabolites that can be detected in the years prior to clinical diagnosis and that will provide very relevant data in the early diagnosis of PC.

Keywords: Lung Cancer, omics, metabolomics, metabolites, early diagnosis, COPD; biomarkers, longitudinal studies.

INTRODUCCIÓN

El cáncer de pulmón (CP) es el que provoca mayor mortalidad, fundamentalmente porque habitualmente se diagnostica en fases avanzadas de la enfermedad, con menores posibilidades de curación. Los métodos de diagnóstico precoz más prometedores son la Tomografía

Axial Computarizada (TAC) de baja dosis y los nuevos biomarcadores (BM) basados en las técnicas ómicas. Para el diagnóstico precoz, la validación de posibles BM y el screening de CP son fundamentales, y escasos, los estudios longitudinales. La metabolómica refleja lo que ocurre en un sistema biológico en un momento

Recibido: 20.06.2023 Aceptado: 27.07.2023

Dr. Antonio Pereira Vega
apv01h@gmail.com

determinado y se ha utilizado para diferenciar patrones metabólicos de pacientes con CP, de sujetos sanos^{7,3}, o pacientes con patología no tumoral, como la EPOC^{4,6}. En las primeras fases de la oncogénesis del CP se produce la alteración de determinadas vías metabólicas y la detección de determinados metabolitos resultantes de dicha alteración, podrían ser posibles BM precoces de CP. Nuestro grupo ha detectado 11 metabolitos como posibles BM precoces de CP^{4, 5}. Tras la obtención de posibles de BM precoces de CP, es fundamental validarlos en estudios longitudinales^{7, 8}.

Son escasos los estudios longitudinales en los que se analizan, en los años previos al diagnóstico clínico del CP, muestras sanguíneas con el objeto de identificar y validar posibles BM precoces de CP⁹⁻¹¹. Por otra parte, respecto a la metabolómica, solo hemos encontrado el estudio de Schult *et al.*¹², en el que analizan en 25 pacientes diagnosticados de CP, las muestras sanguíneas en años anteriores a su diagnóstico clínico (0,5 a 5 años), mediante estudios metabólicos realizados con resonancia magnética. Dichos autores encuentran que el PMG difiere entre controles sanos y pacientes con CP y que, en los años previos al diagnóstico del CP, el perfil metabólico global ya presenta cambios que podrían sugerir la presencia del CP. Los autores indican que se requieren más estudios longitudinales, retrospectivos y prospectivos, que realicen estudios metabólicos en los años previos a su diagnóstico clínico.

La cohorte CHAIN se inició en 2010, e incluye a una población de pacientes con EPOC y otra de controles sanos con la función pulmonar conservada (fumadores activos o exfumadores) con seguimiento anual durante al menos 5 años incluyendo visitas presenciales cada 12 meses y extracción sanguínea. La inclusión de sujetos o pacientes se realiza en 36 hospitales españoles. Actualmente están incluidos más de 1.500 individuos. La Cohorte DEPRECAP de la FJD también dispone de muestras de sangre de sujetos que en años posteriores desarrollaron un CP. En el seguimiento de ambas cohortes, hasta la actualidad, 38 sujetos han desarrollado un cáncer de pulmón (**Tabla 1**). Las muestras de estos sujetos de años previos al diagnóstico de CP están localizadas. Se han seleccionado los sujetos que han desarrollado un CP en el seguimiento y se han estudiado en muestras de sangre, posibles alteraciones metabólicas/metabólicas producidas en años anteriores (hasta 7 años antes) al diagnóstico clínico del CP. El potencial del análisis de las muestras de los sujetos que han desarrollado un CP en el seguimiento está fuera de toda duda.

Nuestro estudio pretende analizar en la cohorte CHAIN y la cohorte DEPRECAP, muestras de suero de sujetos que

han desarrollado un CP durante el seguimiento. Se han analizado muestras de los años previos a su diagnóstico y se han comparado con las muestras obtenidas en el momento del diagnóstico (basales). Se han analizado los cambios del PMG y de los metabolitos diana en los años anteriores a su diagnóstico clínico. Estos posibles cambios metabólicos permitirán validar posibles BM precoces de CP^{4, 5} y profundizar en la fisiopatogenia de la enfermedad, proporcionando información sobre vías metabólicas alteradas en el CP, así como su génesis y progresión, diagnóstico precoz o seleccionar pacientes para la realización de técnicas de imagen (TACAR).

MATERIAL Y MÉTODO

Nuestro grupo, al comparar previamente los perfiles metabólicos globales (PMG) de sujetos sin CP, en este caso sujetos con EPOC, y pacientes con cáncer de pulmón^{4, 5}, hemos encontrado una clara diferencia entre ambos grupos y se han obtenido 11 metabolitos causantes de las diferencias encontradas: creatina, fosfoetanolamina, glutamato, carnitina, tirosina, fosfocolina, lisofosfocolina 16:0, fosfocolinas 16:0/16:01 y 16:0/20:5, y triacilglicéridos 16:0/16:0/18:1 y 18:3/18:2/18:2; que podrían ser posibles BM precoces de CP.

Para intentar validar nuestros resultados, hemos analizado muestras de sangre de sujetos incluidos en la cohorte CHAIN y la cohorte DEPRECAP. Ambas cohortes, son estudios longitudinales retrospectivos de sujetos sanos o con EPOC, a los que se realiza un seguimiento de al menos 5 años, y en los que se realiza seguimiento clínico y extracción sanguínea anual.

Para el presente estudio, se han seleccionado los sujetos que han desarrollado un CP en el seguimiento de ambas cohortes (hasta ahora 38 sujetos). En la **Tabla 1** se pueden observar, en distintos colores, las muestras de suero seleccionadas. En el año 0 (color gris) se incluyen las muestras extraídas en el momento de diagnóstico de CP. Las muestras extraídas en los años previos al diagnóstico clínico del cáncer de pulmón, se pueden observar en las indicadas desde el AÑO -1 (color verde claro) al AÑO -7 (color verde oscuro). En la **Tabla 2** se muestran las características generales de los 38 sujetos seleccionados.

Varios de los investigadores de nuestro grupo son miembros del Comité Científico de la Cohorte CHAIN y de la cohorte DEPRECAP. Dichos Comités, han aprobado el uso de sus muestras para nuestros estudios. Todos los Comités de Ética e Investigación (CEI) de los hospitales participantes han aprobado el proyecto. Son muy escasas las investigaciones previas que hayan abordado estudios metabólicos sobre una cohorte longitudinal de sujetos con riesgo de presentar CP.¹²

Para el estudio piloto que se presenta en este artículo, se analizaron las muestras de sangre recogidas en el año del diagnóstico de CP (basal) de 10 sujetos y muestras recogidas en los años previos al diagnóstico clínico de CP. Se han seleccionado exclusivamente muestras de sangre sin hemólisis, con índice hemolítico menor de 20¹³.

Se han utilizado técnicas avanzadas de química analítica basadas en espectrometría de masas de última generación y cromatografía líquida.

En las diferentes muestras: muestra basal (año 0) en la fecha del diagnóstico, y en los años previos a su diagnóstico clínico (-1 a -7 años), se ha realizado el análisis del PMG y se han comparado el grupo basal y los de los años previos. Se han comparado las muestras basales con muestras recogidas en los dos años previos al diagnóstico clínico (hasta ahora 25), con muestras recogidas en los tres años previos (38) y 7 muestras de las recogidas entre el 4º y el 7º año previo al diagnóstico clínico. Se ha utilizado el análisis discriminante de mínimos cuadrados parciales (PLS-DA) para la comparación entre grupos. En las gráficas PLS-DA, cada punto representa un sujeto / paciente, y el lugar en la gráfica es consecuencia de su perfil metabolómico global, específico y único de su espectrometría de masas.

Si se encuentran diferencias entre grupos, el siguiente paso sería intentar buscar los metabolitos causales de las diferencias encontradas entre los perfiles. Para ello, se sigue con el mismo tratamiento estadístico basado en el análisis discriminante de mínimos cuadrados parciales (PLS-DA). Una vez encontrados los metabolitos causantes de las posibles diferencias en los PMG, la evaluación de la sensibilidad y especificidad de estos se llevó a cabo mediante la construcción de las curvas ROC (*Receiver Operating Characteristic*). Los resultados del área bajo la curva (AUC) son indicativos de la especificidad y sensibilidad del metabolito para la enfermedad. Un valor de AUC mayor a 0,7 es considerado de utilidad clínica.

Para la evaluación de las rutas metabólicas afectadas por el CP se utilizó la herramienta MetaboAnalyst 3.0 disponible en Internet (www.metaboanalyst.com). De igual forma, al comparar las muestras extraídas en el momento del diagnóstico del cáncer de pulmón y las de los años previos al diagnóstico, los datos evaluados fueron los metabolitos alterados en cada una de las comparaciones realizadas.

RESULTADOS

En la **Figura 1**, al comparar las muestras basales seleccionadas, de las cohortes CHAIN y DEPRECAP, y las de los 2 años previos a su diagnóstico clínico, se puede apreciar en la gráfica PLS-DA una clara discriminación entre ambos grupos.

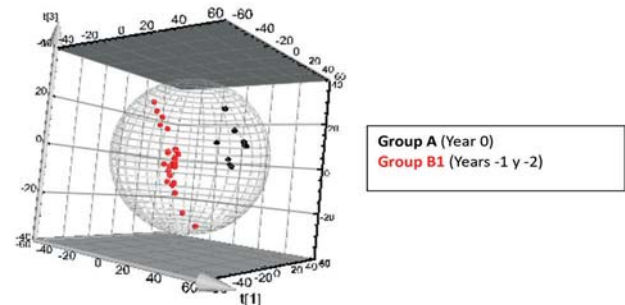
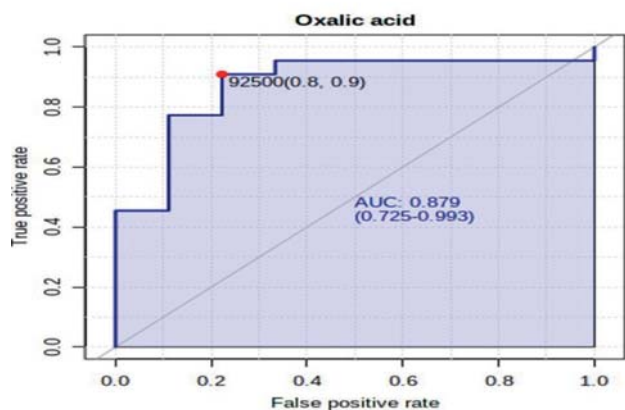
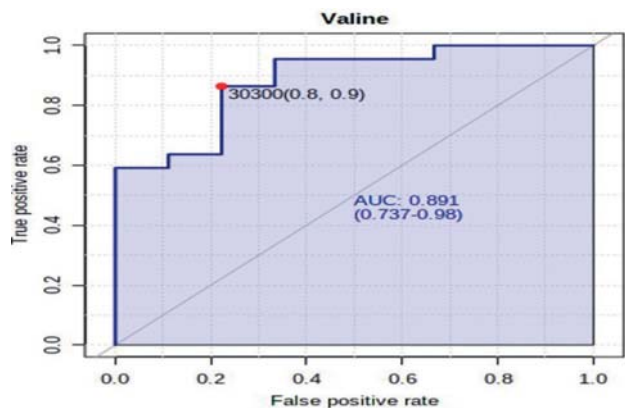


Figura 1: Comparación de muestras basales y de los 2 años previos.

Gráfica PLS-DA que compara muestras basales (grupo A) y muestras de los 2 años previos al diagnóstico clínico del cáncer de pulmón. Se aprecia una clara diferencia entre ambos grupos.

Los metabolitos causantes de las diferencias encontradas han sido: valina, glutamina, ácido oxálico y galactosa. Las vías metabólicas implicadas en estos hallazgos han sido: el metabolismo de la glicina, serina y treonina y la biosíntesis de aminoacyl-tRNA. (**Figura 2**).



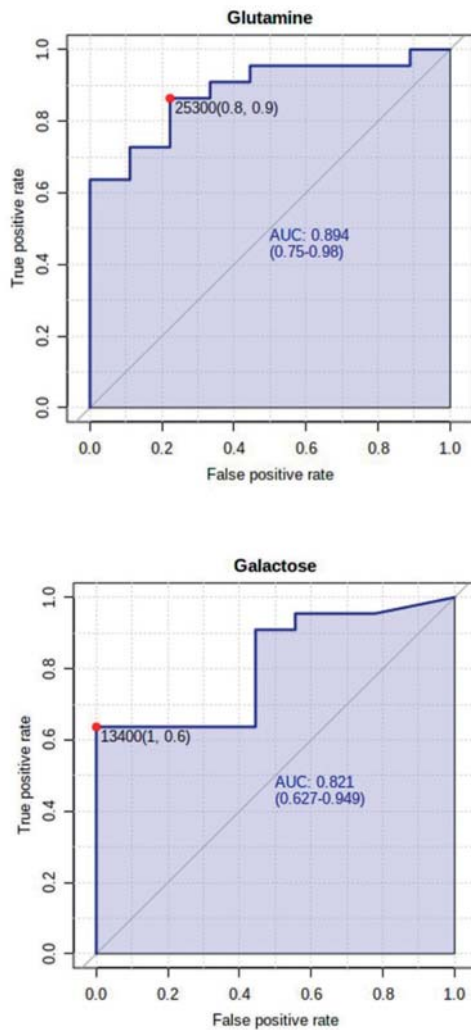


Figura 2: Metabolitos (Figura 2-A) con un área bajo la curva >0.75 (AUC>0.75) y vías metabólicas (Figura 2-B) implicadas en la diferencia entre las muestras basales y muestras de los 2 años previos al diagnóstico clínico del cáncer de pulmón.

Pathway Name	-log(p)	Impact	Nº of altered metabolites	Name	KEGG Code
Glycine, serine and threonine metabolism	1.84	0.27	2 of 33	Glycine Glyceric acid	C00037 C00258
Aminoacyl-tRNA biosynthesis	2.69	0.00	3 of 48	Glutamine Glycine Valine	C00064 C00037 C00183

Figura 2B: Vías metabólicas implicadas en la diferenciación entre los grupos.

Al comparar las muestras basales con las obtenidas en los 3 años previos también hemos encontrado una clara diferencia significativa entre los grupos (**Figura 3**).

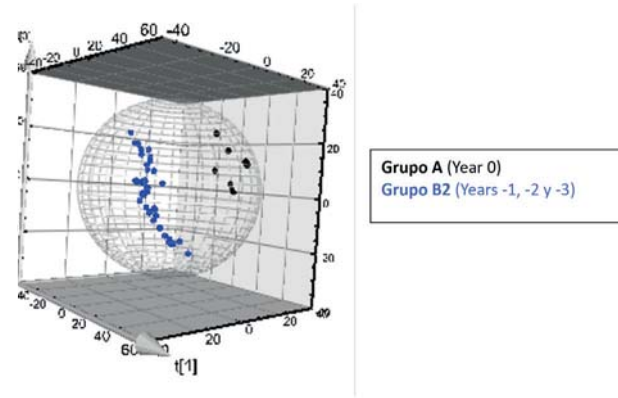
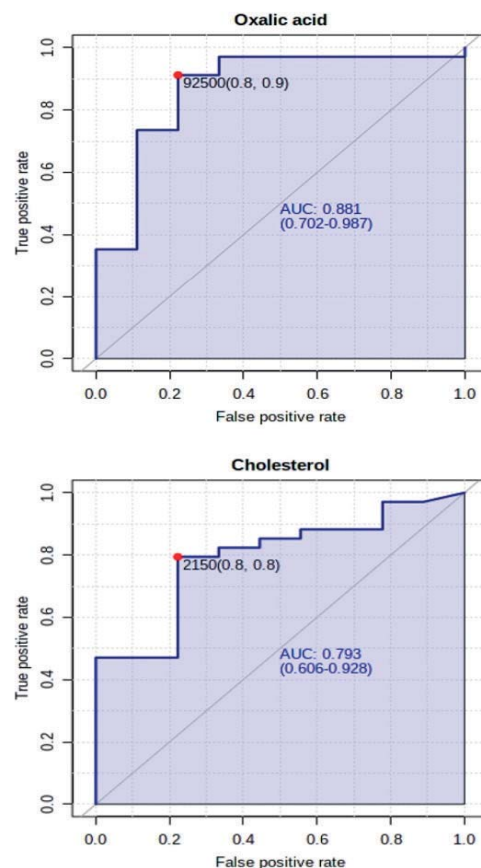


Figura 3: Comparación de muestras basales y de los 3 años previos.

Gráfica PLS-DA que compara muestras basales (grupo A) y muestras de los 3 años previos al diagnóstico clínico del cáncer de pulmón. Se aprecia una clara diferencias entre ambos grupos.

Los metabolitos causantes de diferencias encontradas en este caso han sido: valina, glutamina, ácido oxálico, ácido esteárico, colesterol y ácido fosfórico. Las vías metabólicas implicadas han sido, de nuevo, el metabolismo de la glicina, serina y treonina y la biosíntesis de aminoacyl-tRNA, y el metabolito del glioxilato y dicarboxilato, biosíntesis de la arginina y el metabolismo del glutatión. (**Figura 4**).



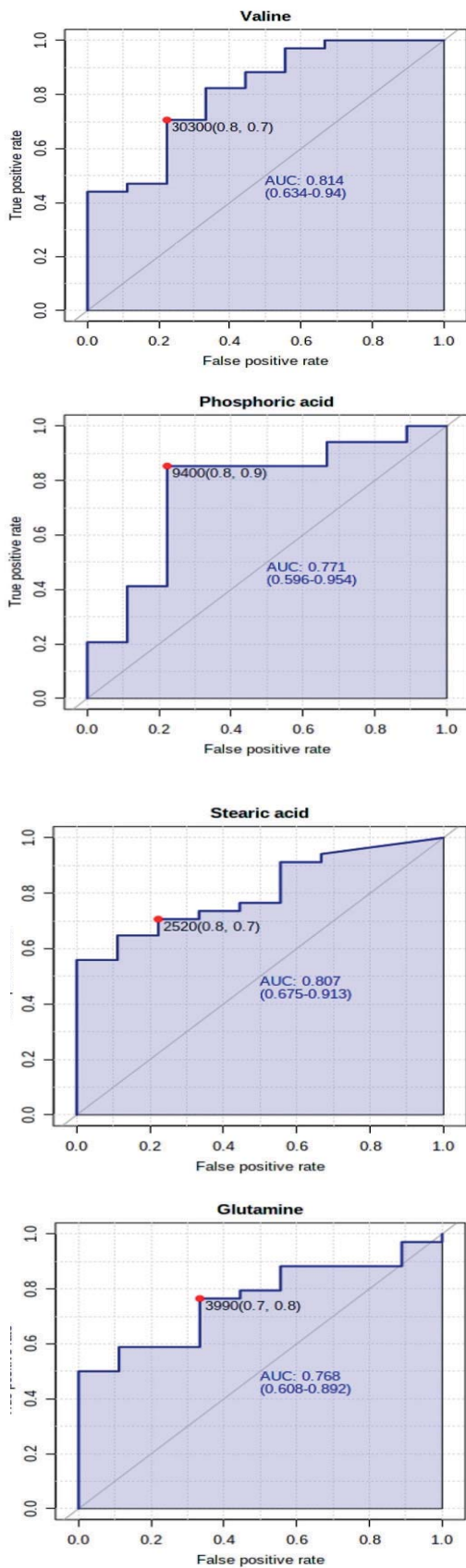


Figura 4: Metabolitos (**Figura 4A**) con un área bajo la curva > 0.75 (AUC > 0.75) y Vías metabólicas (**Figura 4B**) implicadas en la diferencia entre las muestras basales y muestras de los 3 años previos al diagnóstico clínico del cáncer de pulmón.

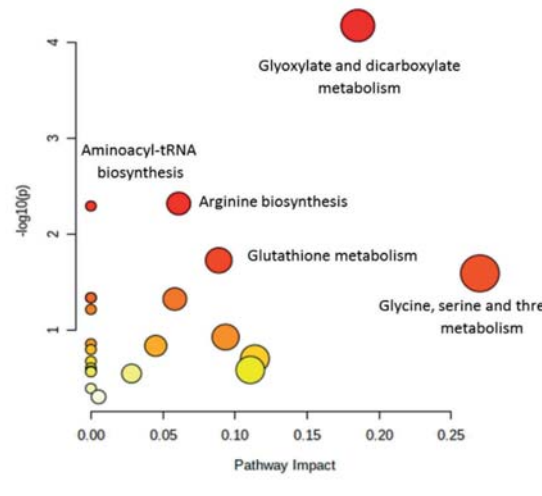


Figura 4 B: Vías metabólicas implicadas en la diferenciación entre los grupos. El tamaño del círculo refleja la relevancia en la diferenciación entre los grupos.

Al comparar las muestras basales con las de 4 a 7 años previos a su diagnóstico clínico también encontramos claras diferencias significativas entre ambos grupos (**Figura 5**).

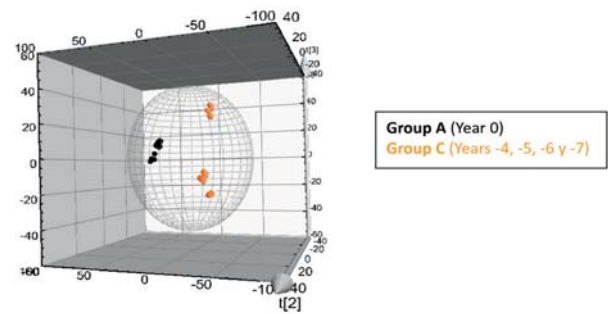


Figura 5: Comparación de muestras basales y de los 4 a 7 años previos.

Gráfica PLS-DA que compara muestras basales (grupo A) y muestras de los 4 a 7 años previos al diagnóstico clínico del cáncer de pulmón.

Los metabolitos que explican las diferencias son: glutamina, ácido oxálico, ácido glicérico, ácido isocítrico, acetamida y glicina. Las vías metabólicas implicadas han sido: metabolismo de la glicina, serina y treonina, la biosíntesis de aminoacyl-tRNA y el metabolismo del glioxilato y dicarboxilato. (**Figura 6**)

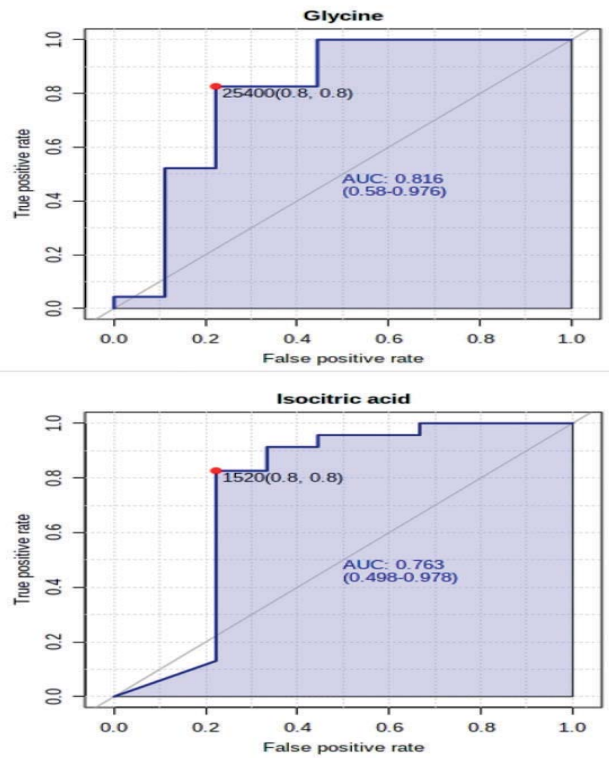
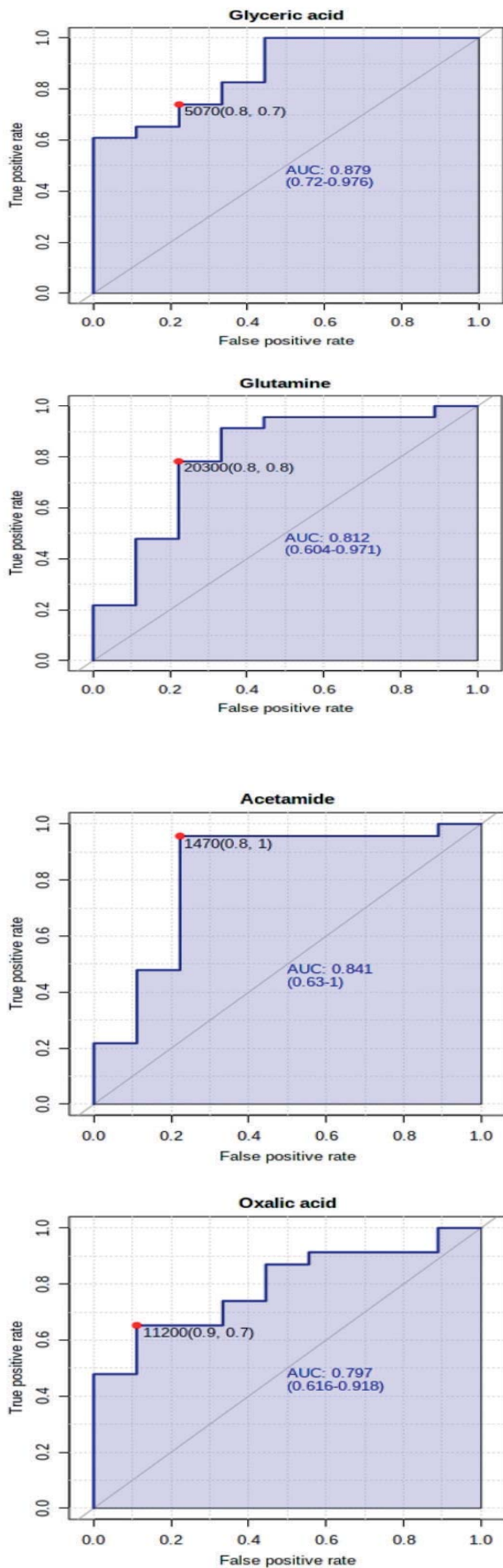


Figura 6: Metabolitos (Figura 6A) con un área bajo la curva >0.75 (AUC>0.75) y Vías metabólicas (Figura 6B) implicadas en la diferencia entre las muestras basales y muestras de los 4 a 7 años previos al diagnóstico clínico del cáncer de pulmón.

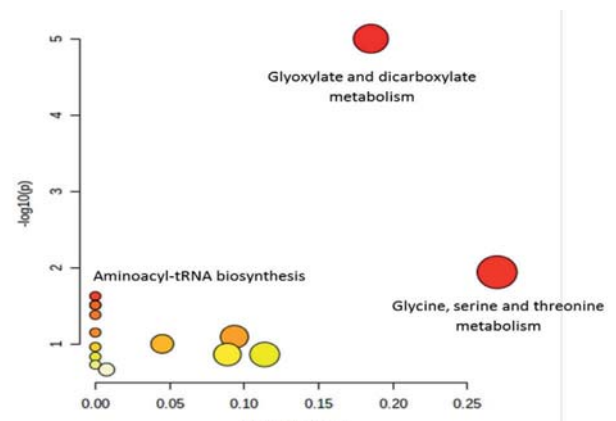


Figura 6B: Vías metabólicas implicadas en la diferenciación entre los grupos. El tamaño del círculo refleja la relevancia en la diferenciación entre los grupos.

En el análisis realizado se han identificado 13 metabolitos que se van alterando en los años previos al diagnóstico clínico del CP y potencialmente están implicados en el desarrollo de cáncer de pulmón (CP). Estos metabolitos están relacionados con 5 rutas metabólicas principales.

En la **tabla 3** se muestran los metabolitos causantes de las diferencias encontradas entre los diferentes grupos analizados. En nuestro estudio comparando el grupo de CP basal y los de los años previos, encontramos claras diferencias en los PMG, justificadas por la detección de determinados metabolitos relacionados con diferentes vías metabólicas, que en estudios previos se han relacionado con el CP. Es decir, en los años previos al diagnóstico clínico del cáncer de pulmón, ya se producen cambios metabólicos, y de determinados metabolitos, que podrían sugerir la aparición de un futuro CP.

Además, también se incluyen en la tabla, los metabolitos causales de las diferencias encontradas al comparar, en estudios previos de nuestro grupo^{4, 5} los PMG de pacientes con CP y sujetos con EPOC. Al comparar pacientes con CP y EPOC^{4, 5}, también encontramos claras diferencias en sus PMG, causadas por 11 metabolitos que los diferenciaban. Por ejemplo: el glutamato estaba más alto y los fosfolípidos más bajos en pacientes con Cáncer de Pulmón (basal) que en pacientes con EPOC.

Al respecto, ninguno de los 11 metabolitos descritos era significativamente diferentes cuando se comparaban los grupos con CP basal y los diferentes años previos a su diagnóstico clínico. Es decir, se podría intuir que, en los años previos al diagnóstico clínico de CP, estos metabolitos ya sufren modificaciones en su concentración, que podrían orientar a que, en un futuro próximo, podría desarrollarse un CP. Estos resultados validan nuestros 11 posibles BM metabolómicos publicados previamente, dato que tendremos que confirmar con estudios de metabolómica dirigida, con un tamaño de muestra mayor o nuevos estudios de validación externa. En la **Tabla 4**, se realiza una comparación de los PMG, desde el punto de vista de las vías metabólicas implicadas, respecto a la comparación previa entre EPOC/CP y los hallazgos actuales de CP basal / años previos al diagnóstico de CP. Las vías metabólicas implicadas en el desarrollo del CP dejan huellas biológicas que pueden ser trazadas precozmente con interés diagnóstico¹⁴, pronóstico¹⁵o terapéutico^{16, 17}. Al comparar sujetos con EPOC y CP, encontramos una alteración de vías metabólicas claramente relacionadas previamente con el cáncer de pulmón como el metabolismo de los glicerofosfolípidos, ciclo de Krebs y ciclo de la urea⁴. Si comparamos las muestras de CP y las de los años previos, encontramos que era una constante la alteración del metabolismo del glioxilato y dicarboxilato, el metabolismo de la biosíntesis de aminoacyl-tRNA y el metabolismo de la glicina, serina y treonina.

DISCUSIÓN

El cáncer de pulmón (CP) constituye la neoplasia de mayor mortalidad global en nuestro medio, cercana al 60% al año del diagnóstico y de un 94% a los 5 años¹⁸. La mortalidad y el tratamiento del CP varían según el estadio en el que se produce el diagnóstico. Una de las causas de su alta mortalidad es la frecuencia con la que se diagnostica en fases avanzadas de la enfermedad, con escasas posibilidades de tratamiento. El CP suele dar síntomas en fases tardías de la enfermedad, por lo que sería fundamental diagnosticarlo en fases precoces, cuando el paciente todavía esté asintomático (14). En la **tabla 5** se muestra la historia natural del CP, según una modificación de lo publicado por Feig *et al.* 1995¹⁹. En el caso del cáncer de pulmón, el tiempo de latencia sigue este camino: Tras su inicio biológico (células sin control con pérdida de la apoptosis, alteración inmunológica y de la capacidad de la angiogénesis), existe una fase no detectable. En esta fase se produce en las células cancerosas una serie de alteraciones en las vías metabólicas habituales, para obtener mayor energía, y como consecuencia existirá una sobreexpresión o infraexpresión de determinados metabolitos (que podrían diferenciar sujetos sanos de pacientes con CP). Posteriormente, aunque no se tengan síntomas, el cáncer podría ser detectado o realmente se detecta por una técnica sensible como un TAC de baja dosis, constituyendo la fase preclínica. Tras el inicio de las manifestaciones clínicas empieza la fase clínica en la que el diagnóstico se podría realizar por los síntomas del paciente, aunque desafortunadamente éstos pueden ser tardíos. Pues bien, el objetivo de un biomarcador ideal podría ser la detección precoz en la fase preclínica e idealmente en la "no detectable".

En los últimos años se han llevado a cabo múltiples estudios^{12, 16 20} enfocados al diagnóstico precoz del CP. Algunos de ellos se han centrado en la realización de pruebas de imagen como la radiografía de tórax, la tomografía computarizada (TC), la endoscopia de fluorescencia y la TC espiral de baja dosis (TCBD), así como la citología de esputo, sin mejoría de la supervivencia en el uso de ninguno de ellos a excepción del TCBD²¹. Sin embargo, la utilización del screening de CP mediante TCBD tampoco está exenta de diversos problemas como los falsos positivos, exposición a la radiación (aunque sea mínima) y el elevado coste, entre otros.

La búsqueda de nuevos BM basados en las técnicas ómicas realizadas en diferentes biofluidos biológicos; sangre, sudor²², aire exhalado, líquido de biopsias²³, entre otros, fáciles de obtener y sin efectos secundarios, es hoy día uno de los campos de mayor interés en la medicina.

Nuestro grupo ha encontrado diversos metabolitos, lípidos y metales que diferencian claramente pacientes con CP de sujetos patología no cancerosa, como la EPOC, y que podrían utilizarse como posibles BM precoces de CP^{4, 5}: creatina, fosfoetanolamina, glutamato, carnitina, tirosina, fosfocolina, lisofosfocolina 16:0, fosfocolinas 16:0/16:01 y 16:0/20:5, y triacilglicéridos 16:0/16:0/18:1 y 18:3/18:2/18:2), así como metales como el vanadio, cromo y cobre²⁴. Estos resultados tienen bastante concordancia con lo publicado por diversos autores²⁵.

Las técnicas ómicas, están permitiendo obtener BM que pueden sugerir la presencia de un CP en fases tempranas de la enfermedad, como se describe en el inicio biológico del CP por Feig *et al.*¹⁹ cuando el paciente está todavía asintomático. En la sangre, se pueden detectar cambios en el ADN, ARN o elementos (metabolitos, lípidos y metales) producidos por el CP.

Para la obtención, y fundamentalmente para la validación de estos posibles BM, son fundamentales los estudios longitudinales, retrospectivos o prospectivos. Estos estudios de cohortes se suelen realizar en población de riesgo para el CP (fumadores severos y enfisematosos) con el objetivo de establecer BM característicos relacionados con el inicio y progreso del CP. De esta forma, Wen *et al.*²⁶ encuentran que los pacientes que desarrollaron CP durante el seguimiento de 8 años de una amplia cohorte de sujetos tenían niveles de bilirrubina más bajos (<0,75 mg/d L) que el grupo que no lo desarrollaba. Xingdong Chen *et al.*²⁷ utilizando técnicas genómicas, analizaron el plasma de 123.115 sujetos sanos en un estudio longitudinal retrospectivo de 4 años. Desarrollaron un CP en el seguimiento 142 sujetos, inicialmente asintomáticos. Estudiaron 47 muestras previas al diagnóstico del cáncer y las compararon con 56 muestras en el momento del diagnóstico de CP (o posteriores) y 414 muestras de sujetos sanos. Los autores indican que se puede identificar, mediante técnicas genómicas, el cáncer incluso cuatro años antes de su diagnóstico clínico realizado con los protocolos habituales, con una sensibilidad del 91%. Sullivan *et al.*^{11, 28} analizan la utilidad del test Early-CDT[®]- Lung, una nueva prueba de diagnóstico de autoanticuerpos para detección precoz del cáncer de pulmón, que permite estratificar a los individuos según su riesgo a desarrollar CP. La prueba mide siete autoanticuerpos: p53, NYESO-1, JAULA, GBU4-5, HuD, MAGE A4 y SOX2. Los autores establecen que pueden identificar el 41% de los cánceres de pulmón con una alta especificidad, del 90%, incluso varios años antes de su diagnóstico clínico, pero el ensayo tiene una baja sensibilidad (alrededor del 49%), lo que supone un problema para una prueba de screening. La discrepancia entre la sensibilidad detectada en estos estudios indica

la necesidad de realizar más estudios longitudinales para confirmar estos resultados. No se conocen trabajos que utilicen la metabolómica (metalómica o lipidómica) mediante espectrometría de masas, para la obtención de metabolitos (metalobiomoléculas o lípidos) con utilidad clínica como BM precoces de CP en estudios longitudinales.

La metabolómica refleja lo que ocurre en un sistema biológico en un momento determinado, a diferencia de la genómica o la transcriptómica, que reflejan lo que "puede llegar a ser". Por ello, pensamos que cada vez tienen más interés los estudios metabolómicos en la identificación de una patología concreta, como el CP, en el momento de su diagnóstico y, posiblemente, en los años previos de su detección, cuando ya pueden existir cambios metabólicos/metabolómicos que pudieran sugerir el futuro desarrollo del CP. Por otra parte, debemos resaltar que la metabolómica es consecuencia de la interacción de lo genético y lo ambiental, y la influencia de lo ambiental, fundamentalmente el tabaco, en la génesis de CP está claramente demostrada.

Al respecto, los estudios metabolómicos se basan principalmente en el uso de dos plataformas de análisis, una basada en resonancia magnética nuclear (RMN) y otra en espectrometría de masas (MS). El potencial de la RMN para el análisis de alto rendimiento, junto con la preparación de muestras rápida y sencilla y su carácter no destructivo ha hecho que esta técnica sea la más utilizada tradicionalmente en la metabolómica. Sin embargo, la MS está ganando importancia debido a su alta sensibilidad y especificidad, así como por la posible aplicación a muestras complejas. Por otra parte, la espectrometría de masas es capaz de realizar tanto análisis cualitativo como cuantitativo, proporcionando muestras de huellas digitales para la clasificación e identificación de metabolitos alterados. Así mismo, se pueden acoplar distintas técnicas analíticas para incrementar el poder de discriminación de los metabolitos y de esta manera aumentar su capacidad de detección. Nuestro grupo está utilizando una combinación de MS de última generación con infusión directa de la muestra (DI-ESI-QTOF-MS) para obtener la "huella digital" de los metabolitos presentes en la muestra, o mediante el acoplamiento UPLC-QTOF-MS para obtener el perfil de determinadas subfamilias de metabolitos (profiling), o usando la plataforma GC-MS para metabolitos de menos masa molecular. La MS se puede acoplar a la cromatografía de líquidos y gases. Por otra parte, estamos pendientes de iniciar estudios de metabolómica dirigida (MD), que permite la cuantificación de metabolitos concretos en un momento determinado, hecho de gran relevancia para nuestros

estudios enfocados a la búsqueda de BM precoces de CP y validar nuestros resultados previos. La MB permitirá encontrar puntos de corte de los posibles BM metabolómicos, discriminará los grupos (con / sin CP) y tendrá aplicación clínica directa.

Nuestro estudio pretende analizar los PMG en muestras de suero en sujetos que han desarrollado un CP en la cohorte CHAIN y la cohorte DEPRECAP. Nuestros resultados muestran que los PMG van cambiando antes del diagnóstico clínico del CP. También hemos encontrado los metabolitos causantes de las diferencias encontradas y las vías metabolómicas implicadas.

Nuestro próximo objetivo será realizar metabolómica dirigida, en todas estas muestras, de los posibles BM relacionados con el CP, (nuestros 11 BM, y los obtenidos por otros autores) y cuantificarlos para ver cómo varían en los años previos al diagnóstico clínico de CP y validarlos. Con la metabolómica DIRIGIDA, utilizando kits comerciales de metabolitos concretos, veremos cómo varía cuantitativamente un determinado metabolito (posible BM) entre grupos de EPOC y sanos (20), con un nivel de discriminación (+/-), y ver cómo varía de forma cuantitativa ante una intervención (cirugía...) o en el seguimiento de un nódulo pulmonar. Así mismo, realizaremos estudios de metabolómica, lipidómica y metalómica.

Hasta el momento, Schult *et al.*¹² es el único estudio que ha comparado, mediante metabolómica global muestras de suero de sujetos sanos, pacientes en el momento del diagnóstico del CP y algunas muestras previas a su diagnóstico clínico (de 0,5 a 5 años). Los autores encuentran diferencia entre los 3 PMG, sugiriendo que va cambiando en los años previos a su diagnóstico clínico, resultados que concuerdan con los nuestros. Nuestro estudio difiere del de Schult en que utilizamos espectrometría de masas de última generación acoplada a cromatografía líquida, en vez de RNM, y en que, además de observar el cambio en el PMG en los años previos al diagnóstico de CP, hemos analizado los metabolitos y vías metabólicas implicadas en estos cambios.

Respecto a la **tabla 3**, en la que se incluyen los metabolitos que explican las diferencias encontradas entre los diferentes grupos analizados, queremos resaltar que también hemos incluido, los 11 metabolitos, que en estudios previos de nuestro grupo^{4, 5}, diferenciaban entre CP y EPOC.

Este hecho es relevante, y podría sugerir que la diferenciación entre el CP y la EPOC podría intuirse desde años previos a su diagnóstico clínico. Por ejemplo:

Si en los estudios previos^{4, 5}, en el Cáncer de Pulmón, el glutamato estaba aumentado y los lisofosfolípidos-lisofosfatidilcolinas estaban disminuidos, respecto a la EPOC; al comparar en el estudio actual, el CP basal y los años previos al diagnóstico, ninguno de nuestros 11 metabolitos, aparecían como metabolitos causales de las diferencias encontradas entre los diferentes PMG. Los niveles de glutamato y lisofosfatidilcolinas "podrían sufrir cambios en los años previos al diagnóstico clínico, en las primeras fases de la oncogénesis¹⁹, consecuencia a su vez de la alteración precoz de las vías metabólicas. Estos datos, validan nuestros 11 posibles BM, dato que se deberá confirmar, como hemos comentado previamente, con un tamaño de muestra mayor, y estudios de metabolómica dirigida y validación externa.

Por otra parte, centrándonos en nuestro estudio actual, al comparar los PMG en el momento del diagnóstico del cáncer de pulmón con los diferentes años previos a su diagnóstico clínico, hemos encontrado 13 metabolitos que diferencian los PMG entre los grupos y que estarían potencialmente implicados en el desarrollo del cáncer de pulmón. Los metabolitos alterados con mayor valor de impacto en las curvas ROC han sido el ácido oxálico, glutamina y el ácido glicérico, con independencia del tiempo previo hasta el CP. De nuevo, los estudios de metabolómica dirigida, cuantificando la concentración de los metabolitos implicados, viendo su evolución y determinando los puntos de corte, que estamos pendientes de iniciar, confirmarán estos datos. La robustez de estos, la aportará finalmente la validación externa.

Respecto a las vías metabólicas implicadas (**tabla 4**), todas ellas; las 6 que diferencian entre CP y EPOC, descritas en estudios previos, y las 5 implicadas en la diferenciación de los años previos al diagnóstico de CP, se han relacionado previamente en otros estudios con el cáncer de pulmón. El metabolismo de la glicina, serina y treonina está claramente implicado en la oncogénesis del CP, y la biosíntesis del aminoacyl-tRNA, también es crucial en los años previos.

En resumen, parece que el PMG va cambiando en los años previos al diagnóstico clínico de CP y estamos convencidos que el análisis de estos resultados, y el de otras publicaciones realizadas, incluyendo otras técnicas ómicas (29,30), mediante inteligencia artificial (Big Data), aportarán datos muy relevantes en la búsqueda del diagnóstico precoz del cáncer de pulmón. Estas modificaciones del metabolismo ocurren en la primera fase de la carcinogénesis (**Tabla 5**), cuando todavía el CP, ni da síntomas, ni se puede detectar por los medios diagnósticos actuales.

El estudio actual tiene una serie de limitaciones. Nuestro estudio es un estudio longitudinal retrospectivo

dificultad de recoger muestras de alta calidad (sin hemólisis ni deterioro en el almacenamiento y conservación) en un estudio como el de la cohorte CHAIN y la cohorte DEPRECAP, hace que el tamaño muestral sea un reto. Sin embargo, queremos indicar que con las muestras analizadas hemos encontrado una clara diferencia significativa entre todos los grupos comparados, diferencia que presumiblemente debe incrementarse aumentando el tamaño muestral. Las muestras seleccionadas, basales y de los años previos, no son del mismo paciente, ni de los mismos grupos (muestras insuficientes) por lo que no podemos descartar la variabilidad interindividual e intragrupo; sin embargo, la gran mayoría de los estudios metabolómicos publicados comparan grupos y patologías, al igual que nosotros hemos comparado muestras basales y de los diferentes años previos. Al respecto, debemos destacar que la metodología, los criterios de calidad de las muestras y el análisis metabolómico fue uniforme en todas las muestras. Por último, hay que indicar que la metabolómica puede alterarse por diversos factores ambientales (dieta, fármacos...) y, a pesar de que las muestras se tomaron en ayuno y con un protocolo común, no se han podido controlar, como ocurre en los estudios metabolómicos, otros factores ambientales. Para intentar evitar las debilidades de los estudios retrospectivos, variabilidad interindividual e intragrupo, entre otras; nuestro grupo ha diseñado diversos estudios longitudinales prospectivos para intentar validar BM metabolómicos, que están actualmente en realización: 1) Estudio PROMOTER (Beca Separ 651/2018 y Beca Neumosur 8/2018): Pacientes con CP a los que se realiza cirugía con intención curativa y en los que se analiza el suero pre-post cirugía, al mes y cada 3 meses durante 3 años. Se valorarán los cambios metabolómicos tras la cirugía de los posibles BM de CP, para valorar la potencial curación del CP y, en el seguimiento, la posible utilidad de los BM en la detección precoz de posibles recidivas; 2) Estudio MODIFY (Beca Neumosur 5-2022): Nódulos pulmonares (NP) incidentales en los que se quiere analizar el poder predictor de los BM metabolómicos de los NP malignos y; 3) Estudio EBUS (Beca Neumosur 12/2021): Valorar la utilidad de la metabolómica en el diagnóstico de adenopatías mediastínicas estudiadas por EBUS con citología negativa.

CONCLUSIONES

Las conclusiones de nuestro estudio son las siguientes: Nuestros resultados han iniciado la validación de nuestros 11 posibles BM precoces de CP, que deberá corroborarse con otros estudios mediante el aumento del tamaño muestral, nuevos estudios longitudinales prospectivos, de metabolómica dirigida y validación externa. En los años previos al diagnóstico clínico del CP, se producen cambios metabolómicos que podrían

ayudar a su diagnóstico precoz. Existen metabolitos relacionados con diferentes vías metabólicas asociadas al CP, que se pueden detectar en los años previos a su diagnóstico clínico y que aportarán datos muy relevantes en el diagnóstico precoz del CP.

Estamos convencidos que el análisis de estos resultados, y el de otras publicaciones realizadas, mediante inteligencia artificial (Big Data), aportarán datos muy relevantes en la búsqueda del diagnóstico precoz del cáncer de pulmón. Estas modificaciones del metabolismo ocurren en la primera fase de la carcinogénesis (**Tabla 5**), cuando todavía el CP, ni da síntomas, ni se puede detectar por los medios diagnósticos actuales. La Big Data será fundamental en la integración de los resultados de los diferentes estudios (anteriores, actuales y futuros), con criterios de calidad objetivados, enfocados a la búsqueda de BM precoces de CP.

Finalmente queremos indicar que se requieren más estudios longitudinales, retrospectivos y prospectivos, a gran escala que soporten los atractivos y prometedores resultados que se están obteniendo, mediante la utilización de técnicas ómicas, en la búsqueda de BM precoces del CP. Como hemos indicado, la inteligencia artificial (Big-Data) aportará grandes avances en este sentido.

BIBLIOGRAFÍA

1. Y. Chen, Z. Ma, A. Li, H. Li, B. Wang, J. Zhong et al. Metabolic profiling of human serum in lung cancer patients using liquid chromatography/hybrid quadrupole time-of-flight mass spectrometry and gas chromatography/mass spectrometry. *J Cancer Res Clin Oncol*, 2015, 141 (4): 705-718.
2. Callejon-Leblic B, García-Barrera T, Grávalos-Guzmán J, Pereira-Vega A, Gómez-Ariza JL. Metabolomic profiling of potential lung cancer biomarkers using broncho alveolar lavage fluid and the integrated direct infusion/gas chromatography mass spectrometry platform. *Journal of Proteomics*, 2016, 145:197-206.
3. Callejon-Leblic B, Garcia-Barrera T, Pereira-Vega A, Gomez-Ariza JL. Metabolomic study of serum, urine and broncho alveolar lavage fluid based on gas chromatography mass spectrometry to delve into the pathology of lung cancer. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*, 2019, 163: 122-129.
4. A. Pereira Vega, B. Callejón Leblic, S. García Garrido, L. Padrón Fraysse, J.L. Gómez Ariza, T. García Barrera. " Search for Metabolic Biomarkers for the Early Detection of Lung Cancer in Population at Risk". *Rev. Esp. Patol. Torac.*, 2021,33 (1) 35-45.
5. Callejón-Leblic B, Pereira-Vega A, Vázquez-Gandullo1, E. Sánchez-Ramos JL, Gómez-Ariza JL, García-Barrera T. Study of the metabolomic relationship between lung cancer and chronic obstructive pulmonary disease based on direct infusion mass spectrometry. *Biochimie*, 2019, 157: 111-122.
6. Deja S, Porebska I, Kowal A, Zabek A, Barg W, Pawelczyk K et al. Metabolomics provide new insights on lung cancer staging and discrimination from chronic obstructive pulmonary disease. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*, 2014, 100: 369-380.
7. Callejón-Leblic B, Arias-Borrego A, Pereira-Vega A, Gómez-Ariza JL, García-Barrera T. The metallome of lung cancer and its potential use as biomarker. *Int. J. Mol. Sci.*, 2019; 20, 778-794.

8. Parker, MS. Lung Cancer Epidemiology. Lung Cancer Screening. 2018; 1-5. ISBN 978-1-62623-513-7.
9. T. Wen, L. Gao, Z. Wen, C. Wu, C. Sen Tan, W. Zhong Toh et al. Exploratory investigation of plasma metabolomics in human lung adenocarcinoma. *Molecular BioSystems*, 2013. 9: 2.370-2.378.
10. D. Xiang, B. Zhang, D. Doll, K. Shen, G. Kloecker, C. Freter. «Lung cancer screening: from imaging to biomarker» *Biomarker Research*, 2013, 1: 4 (1-9).
11. F.M. Sullivan, F. S. Mair, W. Anderson, P. Armory, A. Briggs, C. Chew et al. «Earlier diagnosis of lung cancer in a randomised trial of an autoantibody blood test followed by imaging». *European Respiratory Journal*, 2021; 57 (1): 2000670.doi: 10.1183/13993003.00670-2020.
12. T. Schult, M. Lauer, Y. Berker, M. Cardoso, L. Vandergrift, P. Habbel et al. "Screening human lung cancer with predictive models of serum magnetic resonance spectroscopy metabolomics" *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 2021: 118 (51).
13. P. Yin, R. Lehmann, G. Xu. Effects of pre-analytical processes on blood samples used in metabolomics studies. *Anal Bioanal Chem*, 2015, 407: 4.879-4.892.
14. M. Yu, R. Sun, Y. Zhao, F. Shao, W. Zhu and J. Aa. Detection and verification of coexisting diagnostic markers in plasma and serum of patients with non-small-cell lung cancer. *Future Oncology*, 2021, 17, 32, 4.355-4.369.
15. P. Moreno Casado, M.A. Calzado Canales, A. Álvarez Kindelán. Prognosis markers in lung carcinogenesis SIAH2-DyRK2 pathway. *Rev. Esp. Patol. Torac*, 2018, 30, 2, 144-152.
16. N. Ahmed, B. Kidane, L. Wang, Z. Nugent, N. Moldovan, A. McElrea et al. Metabolic Changes in Early-Stage Non-Small Cell Lung Cancer Patients after Surgical Resection. *Cancers*, 2021, 13, 3012.
17. A. Botticelli, P. Vernocchi, F. Marini, A. Quagliariello, B. Cerbelli, S. Reddel et al. Gut metabolomics profiling of non small cell lung cancer (NSCLC) patients under immunotherapy treatment. *Journal of Translational Medicine*, 2020, 18, 49.
18. Las cifras de cáncer en España en 2020. Sociedad Española de Oncología Médica (SEOM). Depósito legal: M-3266-2020.
19. M.D. Stephen A. Feig. Estimation of Currently Attainable Benefit from Mammographic Screening of Women Aged 40-49 Years. *New Swedish Screening Results*, 1995. 2.412-2.419.
20. D. Yang, X Yang, Y Li, P Zhao, R Fu, T Ren et al. Clinical significance of circulating tumor cells and metabolic signatures in lung cancer after surgical removal. *Journal of Translational Medicine*, 2020. 18: 243.
21. The National Lung Screening Trial Research Team (NLST). Lung Cancer Incidence and Mortality with Extended Follow-up in the National Lung Screening Trial. *Journal of Thoracic Oncology*. 2019; 14(10):1.732-1.742.
22. S. Martín Bote, M. Arenas de Larriva, M. Entrenas Castillo, N. Feu Collado, N. Pascual Martínez, R. Lama Martínez et al. Differences in Sweat Metabolites According to Diagnostic Status in Squamous Lung Cancer. *Rev. Esp. Patol. Torac*, 2019, 31, 4, 218-223.
23. Y. Adir, S. Tirman, S. Abramovitch, C. Botbol, A. Lutaty, T. Scheinmann et al. Novel non-invasive early detection of lung cancer using liquid immunobiopsy metabolic activity profiles. *Cancers Immunology, Immunotherapy*, 2018. <https://doi.org/10.1007/s00262-018-2173-5>.
24. Belen Callejon-Leblic, J.L. Gomez-Ariza, A. Pereira-Vega and T. Garcia-Barrera, Metal dyshomeostasis based biomarkers of lung cancer using human biofluids. *Metalomics*, 2018, 10 (10), 1.444-1.451.
25. A. Klupczynska, S. Plewa, M. Kasprzyk, W. Dyszkiewicz, Z. J. Kokot, J. Matysiak. Serum lipidome screening in patients with stage I non-small cell lung cancer. *Clinical and Experimental Medicine*, 2019, 19, 505-513.
26. Wen CP, Zhang F, Liang D, Wen C, Gu J, Skinner H et al. The ability of bilirubin in identifying smokers with higher risk of lung cancer: a large cohort study in conjunction with global metabolomic profiling. *Clinical Cancer Research*, 2014; 21(1): 193-200.
27. Chen X, Gole J, Gore A, He Q, Lu M, Min J et al. Non-invasive early detection of cancer four years before conventional diagnosis using a blood test. *Nature communications*, 2020; 11(1): 1-10.
28. Edelsberg J, Weycker D, Atwood M, Hamilton-Fairley G, Jett JR. Cost-effectiveness of an autoantibody test (Early CDT-Lung) as an aid to early diagnosis of lung cancer in patients with incidentally detected pulmonary nodules. *PLoS one*, 2018; 13(5): e0197826. DOI: <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0197826>.
29. J. F. Haince, P. Joubert, H. Bach, R. A. Bux, P. S. Tappia, and B. Ramjiawan. Metabolomic Fingerprinting for the Detection of Early-Stage Lung Cancer: From the Genome to the Metabolome. *Int. J. of Mol. Sci*, 2022. 23, 1215.
30. J Zheng, Y Zheng, W Li, J. Zhi, X Huang, W Zhu et al. Combined metabolomics with transcriptomics reveals potential plasma biomarkers correlated with non-small-cell lung cancer proliferation through the Akt pathway. *Clinica Chimica Acta* 530, 2022. 66-73.

AGRADECIMIENTOS

Este estudio ha sido realizado con la financiación de la Beca PI16/01783 del Instituto Carlos III, de la Beca P20/00366 de la Junta de Andalucía, la Beca 9/2015 concedida por la Asociación de Neumología y Cirugía Torácica del Sur (Neumosur), y la Beca 091/2016 de la Sociedad Española de Neumología y Cirugía Torácica (SEPAR).

ANEXOS:

Tabla 1: Muestras de suero de sujetos que han desarrollado un cáncer de pulmón en el seguimiento de la cohorte CHAIN y la cohorte DEPRECAP.

Nº	MUESTRA	AÑO 0 (DX CANCER)	AÑO -1	AÑO -2	AÑO -3	AÑO -4	AÑO -5	AÑO -6	AÑO -7
1	FJD_012				Muestra FJD_012				
2	FJD_313						FJD_313		
3	FJD_329		Muestra FJD_329						
4	FJD_351	Muestra FJD_351							
5	FJD_408		Muestra FJD_408						
6	FJD_669	Muestra FJD_669							
7	FJD_726		Muestra FJD_726						
8	FJD_842	Muestra FJD_842							
9	FJD_854	Muestra FJD_854							
10	FJD_896		Muestra FJD_896						
11	FJD_923	Muestra FJD_923							
12	FJD_925		Muestra FJD_925						
13	FJD_959		Muestra FJD_959						
14	FJD_1062		Muestra FJD_1062						
15	CHAIN_557	12-013-2	12-013-1						
16	CHAIN_582		15-15-1-X						
17	CHAIN_880		4-38-1-x						
18	CHAIN_1147	20-15-5-1	20-15-3-1						
19	CHAIN_677	11-14-3-x		11-14-1-x					
20	CHAIN_611	20-01-9-1	20-01-7-1	20-01-5-1					
21	CHAIN_634		20-04-3-1	20-04-1-1					
22	CHAIN_762			15-29-2-X	15-29-1-X				
23	CHAIN_843		09-66-3-x	09-66-2-x	09-66-1-x				
24	CHAIN_1071				15-48-1-X				
25	CHAIN_1186		33-41-5-1	33-41-3-1	33-41-1-1				
26	CHAIN_222			33-11-5-5	33-11-3-6	33-11-1-2			
27	CHAIN_545				44-07-2-1	44-07-1-1			
28	CHAIN_1081					15-52-1-X			
29	CHAIN_432			44-05-3-1	44-05-2-1	44-05-1-6			
30	CHAIN_767	25-21-5-6	25-21-4-1	25-21-3-1	25-21-2-1	25-21-1-1			
31	CHAIN_1049				12-046-3	12-046-2	12-046-1		
32	CHAIN_871				18-61-3-1	18-61-2-1	18-61-1-1		
33	CHAIN_315				33-13-5-4	33-13-3-3	33-13-1-4		
34	CHAIN_515				11-06-3-x	11-06-2-x	11-06-1-x		
35	CHAIN_1093					18-70-3-1	18-70-2-1	18-70-1-1	
36	CHAIN_308						18-45-3-1	18-45-2-1	18-45-1-1
37	CHAIN_566						18-51-3-1	18-51-2-1	18-51-1-1
38	CHAIN_881								4-39-1-X

Tabla 2: Características generales de los grupos analizados.

Características	Cohorte CHAIN (n = 24)	Cohorte DEPRECAP (n = 14)
Edad, media	67,12 ± 11	65 ± 14
Hombre, n (%)	21 (87,5)	8 (57,14)
IMC (Kg/m2), media	28,06	26,48
Fumadores, n (%)	14 (58,33)	8 (57,14)
Exfumadores, n (%)	10 (41,6)	6 (42,8)
No fumadores, n (%)	-	-
IPA, media	57,20	51,94
EPOC, n (%)	22 (91,6)	9 (64,28)
Grado de obstrucción		
GOLD 1, n (%)	2 (9)	3 (33,3)
GOLD 2, n (%)	8 (36,3)	6 (66,6)
GOLD 3, n (%)	12 (54,5)	0
GOLD 4, n (%)	0	0
No EPOC, n (%)	2 (8,3%)	6 (35,72)
Enfisema, n (%)	-	11 (78,57)
FEV1, media	56,67	86,11
DLCO, media	-	78,3
Estirpe del CP		
CPNCP, n (%)	14 (58,30)	12 (85,71)
CPCP, n (%)	1 (4,16)	1 (7,14)
No disponible***, n (%)	9 (37,5%)	1 (7,14)
Disnea (mMRC)		
0-1, n	10	12
>2, n	14	2
CAT, n (media)	24 (8,33)	7 (4,57)

Abreviaciones: IMC: Índice de masa corporal; IPA: Índice paquete-año; EPOC: Enfermedad pulmonar obstructiva crónica; GOLD: Global Initiative for Obstructive Lung Disease; FEV1: Volumen espiratorio forzado en 1 segundo; DLCO: Difusión de monóxido de carbono; CP: Cáncer de pulmón; CPNPC: Cáncer de pulmón no célula pequeña; CPCP: Cáncer de pulmón célula pequeña; mMRC: escala de disnea modificada del Medical Research Council. *** No disponible por alto riesgo vs no recogida información.

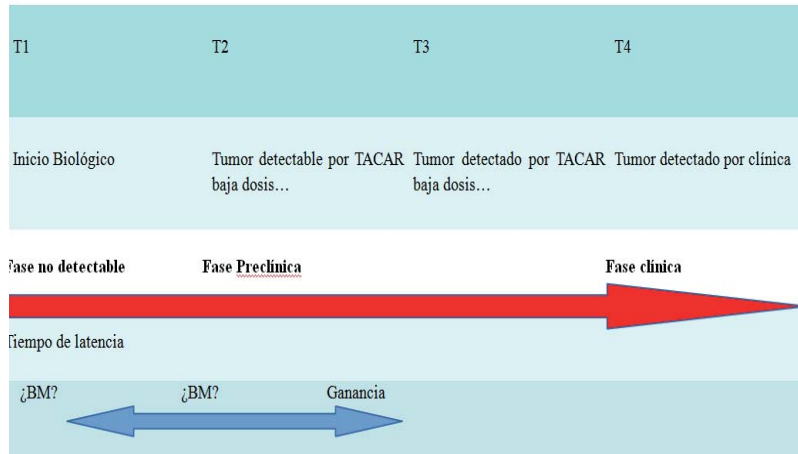
Tabla 3: Metabolitos implicados en las diferencias significativas encontradas entre los diferentes grupos analizados.

Comparación	EPOC/CP basal*			Grupo A/B1**			Grupo A/B2**			Grupo A/B3**		
	AUC<0,70	FC	↑↓	AUC<0,70	FC	↑↓	AUC<0,70	FC	↑↓	AUC<0,70	FC	↑↓
Ac. Benzoico	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0,71	0,06	↓
Ac. Esteárico	-	-	-	-	-	-	0,8	3,71	↑	-	-	-
Ac. Fosfórico	-	-	-	-	-	-	0,77	1,89	↑	-	-	-
Ac. Glicérico	-	-	-	-	-	-	0,74	0,24	↓	0,87	0,1	↓
Ac. Isocítrico	-	-	-	0,72	0,57	↓	-	-	-	0,75	0,09	↓
Ac. Oxálico	-	-	-	0,87	0,44	↓	0,87	0,32	↓	0,79	0,39	↓
Ac. Úrico	-	-	-	0,71	0,78	↓	-	-	-	0,71	0,47	↓
Acetamida	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0,83	0,09	↓
Coolesterol	-	-	-	-	-	-	0,79	2,19	↑	-	-	-
Galactosa	-	-	-	0,81	1,64	↑	0,76	0,36	↓	-	-	-
Glicina	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0,8	0,14	↓
Glutamina	-	-	-	0,88	1,48	↑	0,76	3,79	↑	0,8	2,24	↑
Valina	-	-	-	0,88	0,59	↓	0,81	0,54	↓	-	-	-
Treonina	0,75	1,51	↑	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Creatinina	0,73	1,45	↑	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Ornitina	0,76	1,42	↑	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Glutamato	0,76	1,43	↑	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Arginina	0,74	1,31	↑	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Tirosina	0,75	0,61	↓	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Pentotilcarnitina	0,75	2,55	↑	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Hydroxipentoil carnitina	0,73	2,06	↑	-	-	-	-	-	-	-	-	-
LPC (18:2)	0,72	0,69	↓	-	-	-	-	-	-	-	-	-
LPC (18:1)	0,78	0,69	↓	-	-	-	-	-	-	-	-	-
LPC (20:4)	0,72	0,65	↓	-	-	-	-	-	-	-	-	-

Tabla 4: Vías metabólicas y metabolitos (MB) implicados en las diferencias significativas encontradas entre los diferentes grupos analizados.

Comparación	EPOC/CP basal*		Grupo A/B1**		Grupo A/B2**		Grupo A/B3**	
	- log MB (p)	Impact	- log MB (p)	Impact	- log MB (p)	Impact	- log MB (p)	Impact
Glyoxylate and dicarboxylate metabolism		Isocitric acid C00311			Isocitric acid C00311			Isocitric acid C00311
		Glutamine C00064	4.75	0.19	Glutamine C00064	4.18	0.19	Glutamine C00064
		Glycine C00037			Glycine C00037			Glycine C00037
		Glyceric acid C00258			Glyceric acid C00258			Glyceric acid C00258
Aminoacyl-tRNA biosynthesis		Glutamine C00064	2.69	0.00	Glutamine C00064	2.30	0.00	Glutamine C00064
		Glycine C00037			Glycine C00037			Glycine C00037
		Valine C00183			Valine C00183			Valine C00183
		Glycine C00037			Glycine C00037			Glycine C00037
Glycine, serine and threonine metabolism	Treonina	Glyceric acid C0025	1.84	0.27	Glyceric acid C00258	1.60	0.27	Glyceric acid C00258
Arginine biosynthesis				Glutamine C00064	2.32	0.06	Ornithine C00077	
Glutathione metabolism				Glutamine C00064	1.73	0.09	Ornithine C00077	
Ciclo de Krebs	Glutamato							
Ciclo de la Urea	Arginina	Omitina						
Metabolismo del Glutación								
Metabolismo de la Alanina, aspartato y glutamato								
Metabolismo de los Glicerofosfolípidos		LPC (18:2)						
		LPC (18:1)						
		LPC (20:4)						

Tabla 5: Historia natural del cáncer de pulmón.



- Frecuente diagnóstico tardío
 - Depende del tipo histológico
- Modificado de Feig et al 1995